

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-152

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДНК-ДУПЛЕКСОВ, СОДЕРЖАЩИХ
МОДИФИЦИРОВАННЫЙ 8-ОКСО-АДЕНОЗИН, ОБЛАДАЮЩИЙ РОТОРНЫМ ЭФФЕКТОМ*****PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF DNA DUPLEXES CONTAINING
MODIFIED 8-OXO-ADENOSINE WITH ROTOR EFFECT**А. А. Пушкаревская^{1,2}, А. В. Аралов³, А. А. Ломзов^{1,2}¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск²Новосибирский государственный университет³Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, МоскваА. А. Pushkarevskaya^{1,2}, А. В. Aralov³, А. А. Lomzov^{1,2}¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk²Novosibirsk State University³Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

✉ lomzov@niboch.nsc.ru

Аннотация

При дизайне 2'-дезоксидеокси-7,8-дигидро-8-оксо-N6-(3-метилбензотиазол-2(3H)-илиден)аденозина (X) предполагалось присутствие роторного эффекта в C6-N связи, предполагалось, что модифицированный нуклеозид в свободном состоянии практически не флуоресцирует, однако в составе дуплексов значительно увеличивает флуоресценцию за счет стэкинга взаимодействий и формирования водородных связей. Данный эффект может быть использован для обнаружения SNP.

Abstract

The design of 2'-deoxy-7,8-dihydro-8-oxo-N6-(3-methylbenzothiazol-2(3H)-ylidene)adenosine (X) assumed the presence of a rotor effect in the C6-N bond, suggesting that the modified nucleoside hardly fluoresces in the free state, but significantly increases fluorescence as part of duplexes due to stacking interactions and hydrogen bond formation. This effect can be used for SNP detection.

В настоящее время разработано значительное разнообразие флуоресцирующих ДНК вставок. Данные модификации нашли широкое применение в различных областях исследований, так как являются удобным инструментом детекции изменения среды, например вязкости, как *in vitro*, так и *in vivo* для визуализации процессов в клетках.

Целью нашего исследования было изучение физико-химических свойств олигодезоксирибонуклеотидов (ОДН), содержащих модифицированный 8-оксо-аденозин (X), обладающий роторным эффектом.

С использованием метода оптической спектроскопии определен коэффициент экстинкции X, величина которого составила $24,3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. В результате исследования флуоресцентных свойств выяснено, что максимум его спектра поглощения находится на 346 нм, а максимум излучения флуоресценции на 420 нм. Для проверки роторного эффекта использовали бинарную систему глицерин-вода. При увеличении вязкости среды происходит увеличение квантового выхода флуоресценции нуклеотида с $1,2 \pm 0,2 \%$ в воде более чем в 50 раз в глицерине.

Также исследованы гибридизационные свойства олигонуклеотидов, содержащих модификацию в N6-положении. Введение модификации снижает термическую стабильность ДНК дуплексов с одонуклеотидными несоответствиями падает в ряду оснований C > T > G > A, находящихся напротив модификации в сравнении с тем, когда на месте модифицированного нуклеотида находится тимидин, дестабилизация комплексов наблюдается только в случае расположения A напротив модификации.

Изучение флуоресцентных свойств олигонуклеотидов, содержащих X, и их дуплексов с ДНК показало, что происходит увеличение интенсивности флуоресценции по сравнению со свободным нуклеозидом. В спектрах возбуждения регистрировали максимум на 36 нм, а в спектрах испускания флуоресценции на 384 нм. При этом стоксов сдвиг уменьшается с 74 до 14 нм для свободного нуклеотида. Величина квантового выхода флуоресценции флуорофора в составе олигонуклеотидов зависит от нуклеотидов, окружающих модифицированный нуклеозид и варьируют в диапазоне от $9,4 \pm 0,3 \%$ до $24 \pm 2,5 \%$. При формировании дуплексов с ДНК изменения

* Исследование выполнено в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН № 123021600208-7.

© А. А. Пушкаревская, А. В. Аралов, А. А. Ломзов, 2024

в величине квантового выхода флуоресценции разнонаправленны в зависимости от нуклеотидного окружения флуорофора и типично находятся в рамках величин экспериментальных погрешностей и не превышают нескольких процентов.

Для объяснения закономерностей, наблюдаемых в экспериментах методами молекулярной динамики и квантовой химии были исследованы структуры модифицированных комплексов. Было выяснено, что модифицированный нуклеозид вытесняет напротив стоящее основание из двойной спирали ДНК.

Так как флуорофоры, обладающие роторной подвижностью, в настоящее время малоизучены наши данные могут быть использованы для понимания механизмов данного эффекта и применимы в разработке биосенсоров в медицине для детекции социально значимых заболеваний.